

令和 2 年 6 月 9 日現在

機関番号：15401

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2018～2019

課題番号：18K18787

研究課題名(和文) マンガン団塊の古細菌成因説を検証する

研究課題名(英文) Validate the archaea-generating-hypothesis of manganese nodules

研究代表者

白石 史人 (Shiraishi, Fumito)

広島大学・理学研究科・助教

研究者番号：30626908

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,900,000円

研究成果の概要(和文)：マンガン酸化物は金属資源として注目されており、地球環境・生命進化を理解する上でも重要である。本研究は天然環境におけるマンガン酸化物の形成機構解明を目指した。その結果、三瓶温泉のマンガンクラスト形成に微生物代謝が重要な役割を果たすこと、遠洋性粘土中に膨大な量の微小マンガン粒が存在すること、深海底のマンガン団塊表面に鉱物に被覆された古細菌とも解釈できる中空構造が多数存在することなどが明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、天然環境中でのマンガン酸化物形成に微生物が大きく寄与していることが明らかになった。このことは、金属資源として注目されているマンガン団塊やマンガンクラストの形成にマンガン酸化微生物が関与している可能性を示唆している。また本研究により、底生の酸素発生型光合成微生物が放出する酸素によって効率的にマンガン酸化が起きることが示され、これは同様の現象が約24億年前の全球凍結後にも起きた可能性を示唆している。

研究成果の概要(英文)：Manganese oxides gather attention as potential metal resources, and they are also important for understanding the evolution of Earth and life. This study aimed to understand the formation mechanism of manganese oxides in natural environment. The results of this study indicated that 1) the microbial metabolisms played important role in the formation of manganese crusts in Sambe hot spring, 2) vast amount of Mn-microparticles are contained in pelagic clay, and 3) many hollow structures presented at the surface of manganese nodules perhaps representing manganese-oxidizing archaea.

研究分野：地質学、層位・古生物学

キーワード：マンガン団塊 マンガンクラスト マンガン酸化微生物

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

マンガン酸化物は、現世ではマンガン団塊やマンガンクラストなどとして海洋底に広く存在しており、有望な金属資源として注目されている (例えば Hein et al., 2013). また、大規模なマンガン酸化物鉱床は先カンブリア時代の大酸化イベントや全球凍結に関連して形成されており (例えば Kirschvink et al., 2000), 過去の地球環境・生命進化を理解する上でも重要である. 天然環境におけるマンガン酸化物の形成機構としては、1) 自触媒作用などによる非生物のプロセス、および 2) 微生物などによる生物のプロセスがあると考えられている. 生物のプロセスはさらに、直接プロセス (マンガン酸化細菌の代謝などに起因) と間接プロセス (光合成による局所的 pH・Eh 変化などに起因) に分けられる. 一般的には非生物のプロセスよりも生物のプロセスの方が酸化速度が速いとされ、特に最近ではマンガン酸化細菌による直接プロセスが注目されている (例えば Tebo et al., 2004). 間接プロセスに関しても、光合成微生物によってマンガンの酸化反応が促進されるという報告もある (Richardson et al., 1988). しかし、それらのほとんどは培養実験やシミュレーションから推察されたものであり、天然環境中でのマンガン酸化反応に関しては、各プロセスの詳細や相対的重要性は明らかになっていなかった.

2016 年の時点において、申請者は南太平洋の深海底から採集したマンガン団塊の表面に潜在的なマンガン酸化古細菌 *Thaumarchaeota Marine Group I* が密集することを発見し、それに基づいてマンガン団塊の古細菌成因説を提唱した (Shiraishi et al., 2016). この仮説では、1) *Thaumarchaeota Marine Group I* の持つマルチ銅オキシダーゼがマンガン酸化を触媒することで  $MnO_2$  が沈殿、2) 負電荷をもつ  $MnO_2$  表面に  $Cu^{2+}$  が静電的に吸着、3) その  $Cu^{2+}$  が補因子としてマルチ銅オキシダーゼをさらに活性化させる、という 3 段階が繰り返されることでマンガン団塊が形成されると推定した. しかしながら、これは状況証拠に基づいた仮説であり、より直接的な証拠の積み重ねが必要であった. その一方で、海洋底でのマンガン酸化物形成における微生物代謝の影響評価は技術的に困難な部分もあり、アクセスの容易なアナログ試料研究の必要性も高まっていた.

### 2. 研究の目的

そこで本研究は、南太平洋深海底のマンガン団塊およびその周辺の遠洋性粘土に加えて、三瓶温泉のマンガンクラストも対象とし、構成鉱物や生息する微生物などの検討により、天然環境中のマンガン酸化物形成における微生物の役割を明らかにすることを目的とした.

### 3. 研究の方法

16S rDNA 解析に関しては Shiraishi et al. (2016) の手法に基づいて行った. 微生物観察に関しては、既設の共焦点レーザー走査顕微鏡に 639 nm レーザーを導入し、Cy5 標識プローブを用いた FISH 法と SYBR Green I による核酸染色を同時に適用することで、微生物の検出を行った. 微生物代謝の評価には微小電極を用いた. マンガン酸化物のバルク鉱物組成に関しては、粉末 X 線回折分析および X 線吸収微細構造分析を行った. マンガン酸化物の微小領域における組織に関しては、集束イオンビーム加工によって作成した薄膜試料を透過型電子顕微鏡および走査型透過 X 線顕微鏡を用いて分析・観察を行った.

### 4. 研究成果

(1) 三瓶温泉では、源泉から約 150~200 m 下流に厚さ 1 cm 程度のマンガン酸化物卓越層が形成されており、上流から順に 1) マンガン酸化物・鉄酸化物の互層構造 (site 10.5), 2) マンガン酸化物・方解石の混在構造 (site 11), 3) マンガン酸化物・方解石の二層構造 (site 12.5) が見られた. 顕微鏡観察と 16S rDNA 解析の結果、これら全てのサイトから既知のマンガン酸化細菌に、また site 11 と site 12.5 からシアノバクテリアに近縁なクローンが得られた. マンガン酸化物の表面近傍における微小電極 (pH,  $O_2$ ,  $Mn(II)$ ,  $Ca^{2+}$ ) 測定の結果、検討を行った 3 サイト全てにおいてマンガン沈殿に生物のプロセスが大きく寄与していた. ホルマリン固定処理試料の微小電極測定結果と比較すると、生物のプロセスの寄与は非生物のプロセスよりも 2~24 倍以上大きいことが示された. 生物のプロセスはマンガン酸化菌の直接プロセスに加えて、光合成微生物の多い site 12.5 では間接プロセスも寄与していた. 間接プロセスは、沈殿物表面の拡散境界層中や微生物マット中に成立する化学勾配によって駆動されており、特に溶存無機炭素濃度が比較的高い場合では (例えば 3 mM 以上), pH よりも  $O_2$  の方がマンガン酸化に大きく寄与することが示された. 粉末 X 線回折と X 線吸収微細構造の結果から、関与する生物のプロセスに関係なく、形成される鉱物は結晶性の悪いパーネサイト (すなわちバーナダイト) であった. 以上の結果から、site 10.5 ではマンガン酸化細菌・真菌などの微生物による直接プロセスが、site 11 と site 12.5 ではマンガン酸化細菌・真菌・藻類・シアノバクテリアなどの微生物による直接・間接プロセスがマンガン酸化物形成に寄与していることが推定された. これらの結果は、天然環境に見られるマンガン酸化物の形成に微生物が重要な役割を果たしていることを示しており、それはマンガン団塊にも当てはまる可能性がある. これらの成果に関しては、日本地球惑星科学連合 2019 年大会で発表を行い、また日本地球惑星科学連合 2018 年大会および日本微生物生態学会第 33 回大会では招待講演も行った. さらに国際誌にも論文を発表した (Shiraishi et al., 2019).

(2) 南太平洋海底のマンガン団塊周辺には遠洋性粘土が見られるが、その中に直径数ミクロンの鉄マンガン酸化物微粒子「微小マンガン粒」が存在することが明らかになった。このような微粒子は酸素に満ちた遠洋性粘土にのみ見られ、泥 1 cc あたり 1 億 ~ 10 億個含まれており、地球全体での存在量は  $1.5 \sim 8.8 \times 10^{28}$  個と見積もられた。このような鉄マンガン酸化物の微粒子はマンガン団塊やマンガンクラストの形成にも関与している可能性があり、その形成における微生物の関与も含めて、今後の詳細な検討が求められる。この成果に関しては、日本地球惑星科学連合 2018 年および 2019 年大会で発表を行い、また国際誌にも論文を発表した (Uramoto et al., 2019)。

(3) 南太平洋海底のマンガン団塊に関しては、微小ぶどう状起伏を持つ最表面部から集束イオンビーム加工によって薄膜試料を作成し、透過型電子顕微鏡で観察を行った。その結果、マンガン団塊においてマンガン酸化反応に関与していると予想していた Thaumarchaeota Marine Group I の細胞とほぼ同じ大きさの内径を持つ“中空”構造が多数存在することが明らかとなった。この中空構造周辺のマンガン酸化物は、電子線回折像から Mn(IV) 鉱物であるパーナダイトであると推定された。このマンガン酸化物の価数および中空構造内部の有機物分布を明らかにするために、薄膜試料に対して走査型透過 X 線顕微鏡観察も行った。その結果、マンガン酸化物は X 線による光酸化もしくは Ga イオンビームダメージのために Mn(II) 鉱物へと変質しており、価数分布の評価は困難であった。また有機物分布に関しても、試料を包埋する樹脂のバックグラウンドシグナルのために評価が困難であった。いずれにしても、これまでに得られている結果はマンガン団塊の古細菌成因説と整合的であり、今後の研究によって走査型透過 X 線顕微鏡観察を用いたマンガン酸化物の価数および有機物の分布を評価する手法が開発できれば、微生物がマンガン団塊形成に果たす役割をさらに明らかにすることができると思われる。

#### < 引用文献 >

- Hein, J.R., Mizell, K., Koschinsky, A., Conrada, T.A. (2013) Deep-ocean mineral deposits as a source of critical metals for high- and green-technology applications: comparison with land-based resources. *Ore Geology Reviews* 51, 1–14.
- Kirschvink, J., Gaidos, E., Bertani, L., Beukes, N., Gutzmer, J., Maepa, L., Steinberger, R. (2000) Paleoproterozoic snowball Earth: extreme climatic and geochemical global change and its biological consequences. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 97, 1400–1405.
- Tebo, B.M., Bargar, J. R., Clement, B.G., Dick, G.J., Murray, K.J., Parker, D., Verity, R., Webb S.M. (2004) Biogenic manganese oxides: properties and mechanisms of formation. *Annual Review of Earth and Planetary Science* 32, 287–328.
- Richardson, L.L., Aguilar, C., Neelson, K.H. (1988) Manganese oxidation in pH and O<sub>2</sub> microenvironments produced by phytoplankton. *Limnology and Oceanography* 33, 352–363.
- Shiraishi, F., Mitsunobu, S., Suzuki, K., Hoshino, T., Morono, Y., Inagaki, F. (2016) Dense microbial community on a ferromanganese nodule from the ultra-oligotrophic South Pacific Gyre: Implications for biogeochemical cycles. *Earth and Planetary Science Letters* 447, 10–20.
- Shiraishi, F., Matsumura, Y., Chihara, R., Okumura, T., Itai, T., Kashiwabara, T., Kano, A., Takahashi, Y. (2019) Depositional processes of microbially colonized manganese crusts, Sambe hot spring, Japan. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 258, 1–18.
- Uramoto, G., Morono, Y., Tomioka, N., Wakaki, S., Nakada, R., Wagai, R., Uesugi, K., Takeuchi, A., Hoshino, M., Suzuki, Y., Shiraishi, F., Mitsunobu, S., Suga, H., Takeichi, Y., Takahashi, Y., Inagaki, F. (2019) Significant contribution of seafloor microparticles to the global manganese budget. *Nature Communications* 10, 400.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Uramoto Go-Ichiro, Morono Yuki, Tomioka Naotaka, Wakaki Shigeyuki, Nakada Ryoichi, Wagai Rota, Uesugi Kentaro, Takeuchi Akihisa, Hoshino Masato, Suzuki Yoshio, Shiraishi Fumito, Mitsunobu Satoshi, Suga Hiroki, Takeichi Yasuo, Takahashi Yoshio, Inagaki Fumio	4. 巻 10
2. 論文標題 Significant contribution of seafloor microparticles to the global manganese budget	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 1-10
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) <a href="https://doi.org/10.1038/s41467-019-08347-2">https://doi.org/10.1038/s41467-019-08347-2</a>	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Shiraishi Fumito, Matsumura Yuya, Chihara Ryoji, Okumura Tomoyo, Itai Takaaki, Kashiwabara Teruhiko, Kano Akihiro, Takahashi Yoshio	4. 巻 258
2. 論文標題 Depositional processes of microbially colonized manganese crusts, Sambe hot spring, Japan	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Geochimica et Cosmochimica Acta	6. 最初と最後の頁 1~18
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) <a href="https://doi.org/10.1016/j.gca.2019.05.023">doi.org/10.1016/j.gca.2019.05.023</a>	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 2件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 白石史人・松村宥也・千原亮二・奥村知世・板井啓明・柏原輝彦・狩野彰宏・高橋嘉夫
2. 発表標題 微生物が生息するマンガン酸化物表面におけるMn(II)酸化過程
3. 学会等名 日本地球惑星科学連合2018年大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 浦本豪一郎・諸野祐樹・富岡尚敬・若木重行・中田亮一・和穎朗太・上杉健太郎・竹内晃久・星野真人・鈴木芳生・光延聖・白石史人・菅大暉・武市泰男・高橋嘉夫・稲垣史生
2. 発表標題 南太平洋環流域の堆積物に含まれるマンガン鉱物塊の鉱物学的・地球化学的特徴について
3. 学会等名 日本地球惑星科学連合2018年大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 白石史人
2. 発表標題 Life-water-mineral interactions and their products
3. 学会等名 日本地球惑星科学連合2019年大会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 浦本豪一郎・諸野祐樹・富岡尚敬・若木重行・中田亮一・和穎朗太・上杉健太郎・竹内晃久・星野真人・鈴木芳生・光延聖・白石史人・菅大暉・武市泰男・高橋嘉夫・稲垣史生
2. 発表標題 酸化的な遠洋性堆積物中に存在する大量の微小マンガング粒について
3. 学会等名 日本地球惑星科学連合2019年大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 浦本豪一郎・諸野祐樹・富岡尚敬・若木重行・中田亮一・和穎朗太・上杉健太郎・竹内晃久・星野真人・鈴木芳生・光延聖・白石史人・菅大暉・武市泰男・高橋嘉夫・稲垣史生
2. 発表標題 酸化的な遠洋性堆積物中に存在する大量の微小マンガング粒について（IODP Exp. 329）
3. 学会等名 日本地球惑星科学連合2019年大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 白石史人
2. 発表標題 野外における微小電極測定の実際
3. 学会等名 日本微生物生態学会第33回大会（招待講演）
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

【研究成果】海底堆積物に膨大な“微小マンガング粒”を発見  
<https://www.hiroshima-u.ac.jp/news/49626>

地球生物学 (Geobiology)  
<https://home.hiroshima-u.ac.jp/fshirai/research.html>

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----